

**No title available****Publication number:** JP5285211 (A)**Publication date:** 1993-11-02**Inventor(s):** MATSUI RISA KO; KOIDE MIKIO \***Applicant(s):** TERUMO CORP \***Classification:****- international:** **A61F2/10; A61L27/00; A61F2/10; A61L27/00;** (IPC1-7): A61F2/10; A61L27/00**- European:****Application number:** JP19920094329 19920414**Priority number(s):** JP19920094329 19920414Abstract of **JP 5285211 (A)**

**PURPOSE:**To get an artificial skin which can cover an affected part and induce capillaries at early stage and prevent the infection of germs by stacking a wound contact layer, which consists of matrix containing the matter for accelerating the collagen productivity, and a steam permeation adjusting layer. **CONSTITUTION:**An artificial skin 1 is made by stacking a wound contact layer, which consists of matrix containing the matter for accelerating the collagen productivity, and a steam permeation adjusting layer. As the matter for accelerating the collagen productivity, there is, for example, ascorbic acid or ascorbic acid phosphoric ester, and chitin or a chitin derivative, etc. Moreover, as the moisture penetration adjusting layer, for example, silicone resin, which has moisture flux of, for example, 500-5000g/m<2>.24h, polyacrylic ester, polymethacrylic ester, polyurethane, or the like is used. For this artificial skin, the fibrous sprout cells penetrate into the wound contact layer at early stage, and builds coupled fibers like a real skin, so the cure of the wound is accelerated.

.....  
Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-285211

(43) 公開日 平成5年(1993)11月2日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 L 27/00	C	7180-4C		
A 6 1 F 2/10		7180-4C		
A 6 1 L 27/00	G	7180-4C		

審査請求 未請求 請求項の数1(全 7 頁)

(21) 出願番号	特願平4-94329	(71) 出願人	000109543 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号
(22) 出願日	平成4年(1992)4月14日	(72) 発明者	松井 理佐子 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内
		(72) 発明者	小出 幹夫 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内

(54) 【発明の名称】 人工皮膚

(57) 【要約】

【構成】 コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質を含有させてなるマトリックスからなる創傷接触層と、水蒸気透過調節層とを積層してなることを特徴とする人工皮膚。

【効果】 創傷、熱傷、じょく瘡等により皮膚が損傷を受けた際に損傷面に適用され、創傷接触面が細胞侵人性を有するので、線維芽細胞が早期に創傷接触層に侵入し、真皮様の結合組織を構築するので創傷の治癒が促進される。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質を含有させてなるマトリックスからなる創傷接触層と、水蒸気透過調節層とを積層してなることを特徴とする人工皮膚。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、創傷・熱傷等の皮膚損傷部を乾燥させず柔らかく保護する作用を有し、早期に自己の組織と置換する人工皮膚に関する。

## 【0002】

【従来の技術】熱傷、採皮創および皮膚剥削創、外傷性皮膚欠損創等の疾患ないし創傷による患部を保護し、治癒を促進する目的のために、患部に一時的に適応される創傷被覆材として、従来、ガーゼ、脱脂綿等が用いられてきたが、これらは細菌感染防止が低く、かつ滲出液を速やかに吸収するために創面が乾燥してしまうと取り外す際に、痛み、出血等を伴った。

【0003】また、軟膏等を併用することも行われているが、この場合は逆に滲出液の吸収が不十分で創面が過度に湿った状態になってしまうものであった。

【0004】また、これらに代わるものとしては、特に創面が広範囲にわたる場合に適用されるものとして、シリコーン製ガーゼ、シリコーンゴム製およびペロアー状の表面構造を有するナイロン、テフロンなど合成樹脂シート等の人工材料の被覆膜や凍結乾燥豚皮、キチン繊維布、コラーゲン膜、ポリアミノ酸スポンジ、ムコ多糖複合コラーゲン膜等の生体由来材料の被覆膜も知られている。

【0005】しかしながら、これらのうち人工材料の被覆膜は、患部との密着性、水蒸気透過性、ひび割れなどの点で種々の問題点を残し、一方生体由来材料の被覆膜は生体適合性が良いなどの特徴を有するが、その多くは抗原性を有し、また細菌感染、滲出液による劣化などの欠点を有し、さらに材料が入手しにくい等の問題があった。

【0006】さらに最近では、コラーゲン処理したナイロンメッシュとシリコーン膜からなる複合膜が開発され実用化されており、よく密着し、適度な水分透過性を有するが、創面に固着し、肉芽組織が被覆膜中に入り込むという欠点があった。

【0007】また同様に、上記問題点を解決する方法としてコラーゲンをを用いた人工材料が開発されている。一般にコラーゲン自体は生体由来材料であるため、細胞、組織に対する親和性が大きく、生体適合性に優れ好適な材料であることは上述した通りである。そこで、人工材料としてコラーゲンを利用するにあたっては、適当な方法で架橋を導入し、物性面の強化を図る工夫が成されたものが用いられる。当該架橋の方法としては、加熱による脱水架橋、薬品を用いる化学架橋等を採用したものが

開発されている。

【0008】このうち熱脱水架橋は薬品処理に比べ安全性が高いが、物理的にコラーゲナーゼ、酵素に対する耐性が化学的架橋に対し低いため、通常化学架橋を熱架橋と併用させたり、または化学的架橋単独で用いる方法が選択されており、こうした架橋を導入した人工材料を用いる場合、上記以外に物性面で性質が著しく向上する等の優れた効果を奏するものである。

【0009】例えば110℃の温度で真空中に24時間置いて熱的な架橋を導入した場合、該人工材料の検体ではコラーゲナーゼ3 unit/ml中に37℃で静置すると1日以内に該人工材料中のコラーゲンが溶解するのに対し、イソシアネート系の薬品を用いた化学的架橋のみを施した該人工材料の検体ではコラーゲナーゼ100 unit/ml中に37℃で7日経過しても形態に変化が見られない。

【0010】しかしながら、前記人工材料を人工皮膚として使用する場合、強固な架橋を導入すると、導入前にコラーゲンが有していた細胞、組織に対する親和性が大幅に低下し、コラーゲンマトリックス内にマクロファージ、好中球などの炎症性細胞や線維芽細胞はほとんど存在することができず、やがてはマトリックスを排除して表皮形成し、いわゆるダウン・グロウ（down growth）がおこり、炎症肉芽が形成されてしまう欠点を有する。

【0011】一方、細胞侵入性の良好なコラーゲン変性コラーゲンマトリックスを形成されてなる前記コラーゲンをを用いた人工材料も開発されており、早期に好中球やマクロファージが浸潤し、さらに線維芽細胞が侵入することができる。

【0012】しかしながら、前記人工材料では開放創と同様に創収縮を生じる欠点を有している。つまり、これらの人工材料においては、物性面の強化と細胞に対する親和性という生物学的性能の向上とは両立が困難な相反する実象であり、双方を満足する創傷被覆材あるいは人工皮膚の出現が望まれていた。

【0013】現在までに、上記問題点を解決するものとして、細胞侵入性の良好なコラーゲンマトリックス層と架橋を十分に施したコラーゲンの支持層と、水蒸気透過調節層からなる3層構造の人工皮膚が本発明者らによって開示されている（特開平2-34165号）。

【0014】この人工皮膚は動物実験において創面に適用された際に線維芽細胞が早期に創傷接触層に侵入し、真皮様の結合組織を構築するので創傷の治癒が促進されてなるものである。しかし、この人工皮膚を広範囲の熱創傷または広範囲の皮膚欠損部位に適用する場合、表皮の伸展等に限界があるため、治癒するのに非常に時間がかかる欠点を有していた。

【0015】しかし、この欠点に関しては、一般的に臨床で行われて分層植皮を併用することが可能であり、あ

る一定の期間上記の人工皮膚を移植した後、水蒸気透過調節層と架橋を十分に行った支持層を剥がし、分層植皮を行うと生着することができ、該方法により上記欠点を補うことができ広範囲の欠損部位に適用することも一定条件下では可能ではある。

【0016】しかし、この方法では分層植皮の移植時期が遅くなると、コラーゲンが徐々に分解することから、新たに創面の拘縮がおこるため、早い時期に分層植皮をする必要があり、完全なものとすることはできず、これら問題点を十分に解決してなる創傷被覆材および人工皮膚は未だに得られていないのが現状である。

【0017】更に、本発明に用いられてなるコラーゲン・ヘパリン複合体は生体適合材料として人工血管や人工臓器に用いる場合に、生体適応性に優れ、また内皮細胞の増殖性に優れていることが特開昭63-68174号に記載されている。

【0018】しかしながら、本発明の利用分野である創傷被覆材および人工皮膚材料への適用は、何ら開示しない示唆されているものではない。

【0019】特開昭60-222425には、コラーゲンおよび走化性を誘発されるグルコサミノグリカンの懸濁液からなる創傷治癒剤が記載されている。また、特開昭63-54328には線維状コラーゲンとヘパリンまたはヘパリン類似のグリコサアミングリカンと血小板由来増殖因子あるいは線維芽細胞成長因子の混合物からなる創傷包帯がある。

【0020】その他の先行技術としては、創傷治癒を促進させるために、コラーゲンとムコ多糖類が不可逆的に結合してなる架橋重合体が特公昭54-3779に記載されており、また人工皮膚に関しては架橋されたコラーゲン・ムコ多糖類からなる第1層と水分透過調節層との多層膜が、特公昭57-27834に記載されている。

【0021】

【発明が解決しようとする課題】従来の創傷被覆材あるいは人工皮膚は、上述したようにそれぞれ問題点を有しているので、熱傷等により皮膚組織が損失した場合の患部に対する処理としては、自家移植（オートグラフト [autograft]）が現在最善の方法とされている。

【0022】しかしながら、皮膚欠損部が広範囲にわたる場合等においては、非常に困難であり、適用可能であっても長時間にわたって幾度となく移植を繰り返す必要がある。

【0023】また、自家移植に代わって患部を一時的に被覆する方法として他家移植（アログラフト [allograft]）が適用されている。他家移植は血管が確保されているため、感染しにくいなどの利点があるが、やがては皮膚部分は脱落してしまう。

【0024】そこで、自家移植や他家移植に代わって患部を被覆して毛細血管他を早期に誘導して細菌感染を防

止することができるような人工皮膚の開発が望まれている。

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記諸目的を解決すべき鋭意検討した結果、創傷部に接触し得る部位が細胞侵入性の良好なコラーゲン・ヘパリン、変性コラーゲンとアスコルビン酸リン酸エステルを含んだマトリックスと、該創傷部接触層と密接した水蒸気透過調節層からなることを特徴とする人工皮膚によって上記目的が達成されることを知り、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0025】上記目的は、下記の構成を有する本発明の人工皮膚によって達成される。

【0026】（1）コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質を含有させてなるマトリックスからなる創傷接触層と、水蒸気透過調節層とを積層してなることを特徴とする人工皮膚。

【0027】（2）前記マトリックスが線維化コラーゲン・ヘパリン複合体である上記（1）記載の人工皮膚。

【0028】（3）前記ヘパリンの前記人工皮膚全体に対する含有比が、0.1～2.0重量%である上記（1）および（2）記載の人工皮膚。

【0029】（4）前記コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質がアスコルビン酸またはアスコルビン酸リン酸エステルである上記（1）～（3）記載の人工皮膚。

【0030】（5）前記コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質がキチンまたはキチン誘導体である上記（1）～（3）記載の人工皮膚。

【0031】（6）前記コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質の前記人工皮膚全体に対する含有比が、0.1～10重量%である上記（1）～（5）記載の人工皮膚。

【0032】（7）前記マトリックスが線維化コラーゲン・ヘパリン複合体、およびヘリックス含量が0～80%である変性コラーゲンである上記（1）記載の人工皮膚。

【0033】（8）前記変性コラーゲンの前記人工皮膚全体に対する含有比が、5～30重量%である上記（7）記載の人工皮膚。

【0034】（9）前記ヘパリンの前記人工皮膚全体に対する含有比が、0.1～2.0重量%である上記（7）記載の人工皮膚。

【0035】（10）前記コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質がアスコルビン酸またはアスコルビン酸リン酸エステルである上記（7）～（9）記載の人工皮膚。

【0036】（11）前記コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質がキチンまたはキチン誘導体である上記（7）～（9）記載の人工皮膚。

【0037】(12) 前記コラーゲン産生を促進させる作用を有する物質の前記人工皮膚全体に対する含有比が、0.1～10重量%である上記(7)～(11)記載の人工皮膚。

【0038】本発明に用いるコラーゲン産生を促進する物質は、アスコルビン酸あるいはアスコルビン酸リン酸エステル、及びキチンあるいはキチン誘導体などがある。

【0039】アスコルビン酸はビタミンCとも呼ばれており、分子内にエンジオール基を持ち、そのために反応性に富み、容易に酸化されてデヒドロアスコルビン酸となる。アスコルビン酸及びアスコルビン酸リン酸エステルの生理活性は、今日なお不明瞭な点が多いが、現在明らかになっている作用としては、コラーゲンの生成と維持に必要なことが挙げられている。

【0040】また、アスコルビン酸は中性溶液中37℃で酸素存在下では、非常に不安定であったが、L-アスコルビン酸リン酸エステルはコラーゲン合成のコファクター活性を持ち、また生理下でも安定であることが明らかである。

【0041】一方、キチンはキチン不織布の形で創傷被覆材として使用されており、治癒機序は今日なお不明瞭な点が多いがキチン不織布をどん食した組織球他がコラーゲンの細線維を産生するのに何らかの役割を果たしていることは明らかである。

【0042】上記の理由より、本発明において、アスコルビン酸、特に活性持続型のL-アスコルビン酸リン酸エステル、もしくはキチンまたはその誘導体を含有させることが自己のコラーゲン線維の産生を促進させるうえで好ましい。

【0043】本発明に用いるコラーゲンは、特に限定しないが牛真皮由来のものを酸またはアルカリ処理して得られるファイバーコラーゲンをブロクターゼまたはペプシンで処理し分子末端の抗原基のテロペプチドを消化除去した酵素処理コラーゲン(アテロコラーゲン)を用いることが好ましい。

【0044】本発明に用いる変性コラーゲンは、ヘリックス含量は0～80%であり、好ましくは0～50%、より好ましくは30～50%である。ヘリックス含量とはコラーゲン特有の3重鎖ヘリックス含量のことで、変性コラーゲンはこのヘリックスがランダム化しているために、ヘリックス含量が変性度に対応する。コラーゲンの変性には、例えば加熱処理、化学処理または物理処理等により行うことができるが、特にコラーゲン溶液を60℃で加熱処理するものが最も好ましい。

【0045】本発明の人工皮膚の創傷被覆層は、線維化コラーゲン・ヘパリン複合体水溶液及びコラーゲン産生を促進する物質、特に好ましくはL-アスコルビン酸リン酸エステルの水溶液を混合し、凍結乾燥することにより得られる。

【0046】本発明の人工皮膚の創傷被覆層は、線維化コラーゲン・ヘパリン複合体水溶液、変性コラーゲンの水溶液及びコラーゲン産生を促進する物質、特に好ましくはL-アスコルビン酸リン酸エステルの水溶液を混合し、凍結乾燥することにより得られる。

【0047】本発明の水分透過調節層は、人工皮膚を創面に適用した際の創傷における水分を調節するための層であり、適度な水蒸気透過を行い、創面に滲出液が貯留せず、かつ創面が湿潤に保持された状態とし、一方、滲出液中のタンパク質成分の外部への漏出は防止され、組織の修復に極めて好ましい環境を与えるものであれば、特に限定されるものではなく、例えば無毒性材料からなる約500～5000g/m<sup>2</sup>・24hの水分フラックスを有する層を用いる。厚さは5～200μmが適当である。当該無毒性材料としては、シリコーン樹脂、ポリアクリレートエステル、ポリメタクリレートエステル、ポリウレタン等が挙げられるが、特にシリコーンが好ましい。

【0048】線維状のコラーゲン・ヘパリン複体の形成は、中性あるいは弱アルカリ性水溶液中で加熱することにより線維を形成する。この線維の形成度は溶液の懸濁を測定することにより知ることができる。

【0049】本発明者らは、ヘパリンがコラーゲンの線維形成に及ぼす影響を、濁度を指標として観察した。氷浴中、0.5mg/ml ペプシン処理コラーゲン(アテロコラーゲン)、24mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>・6mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、150mM NaCl (pH7.1)の水溶液中にヘパリンを添加し、これを35℃で6時間加熱し、コラーゲン線維を形成させた時の濁度をスペクトロフォトメーター(日立製作所株式会社製、UV-300)を用いて430nmによる値を測定した。その結果を図1に示す。

【0050】図1よりヘパリンは線維形成を促進させることが明らかであり、該ヘパリンの効果は線維形成時にヘパリンが存在する場合にのみ発揮され、コラーゲン線維形成後にヘパリンを加えても濁度に変化はないことが確認された。

【0051】また図2に、調製時の全ヘパリン濃度と500μgのコラーゲンに結合しているヘパリン量の関係を示した。

【0052】図2より明らかにヘパリン濃度が高いほどコラーゲンのヘパリン含量は高く、コラーゲン線維形成時にヘパリンが存在する場合に比較してコラーゲンのヘパリン含量が多いことが確認された。

【0053】すなわち、図1および図2の結果より、コラーゲン線維形成時にヘパリンを共存させることにより、所望の線維状のコラーゲン・ヘパリン複合体を形成することができ、好適であることが明らかである。

【0054】一方、線維状のコラーゲン・ヘパリン複体を凍結乾燥した形成体を真空下0.05トル未満で

110℃、4時間加熱処理した。図3にこの形成体からのヘパリンの徐放性を示した。

【0055】図3より血清中では20時間には約60%位ヘパリンが徐放されていることが確認された。また、この形成体はpH9~10では、大部分のヘパリンが徐放されることが確認された。

【0056】したがって本発明のアスコルビン酸エステルを含有した線維状のコラーゲン・ヘパリン複合体からなるマトリックスの製造法としては、コラーゲンの酸性溶液をヘパリンの存在下で中和・加熱して得る方法が好ましい。該コラーゲンの酸性溶液のpHとしては、2~4が好ましく、より好ましくは2.5~3.5である。また、加熱温度としては、40℃以下、好ましくは35~37℃の範囲である。40℃を越える場合には、コラーゲン自身が熱変性してゼラチン状のコラーゲンを形成し易く、線維化され難くなるため好ましくない。この溶液にL-アスコルビン酸リン酸エステルを最終濃度が1mMになるように添加して、十分攪拌する。

【0057】また、酸性溶液中のコラーゲンの濃度は約0.3(w/v)%程度が好ましい。ヘパリンの添加量は約1~1000μg/mlとなる量が好ましく、好ましくは10~100μg/mlである。ヘパリンの添加量が1000μg/mlを越える場合には線維状のコラーゲン・ヘパリン複合体が得られず好ましくない。

【0058】以下、実施例を示し本発明の人工皮膚についてさらに詳細に説明する。

【0059】

【実施例】

(実施例1)

コラーゲン・ヘパリン複合体の調製

リン酸緩衝溶液に最終濃度が、16μg/mlになるようにヘパリン・ナトリウム溶液(ブタ小腸粘膜由来)を加え、氷浴中で最終濃度が1.5mg/mlになるように牛真皮由来ペプシン処理コラーゲン(高研株式会社製、アテロコラーゲン)を加えた。その後、37℃で4時間加熱処理して、コラーゲン・ヘパリン複合体の懸濁液を得た。

【0060】(実施例2)

コラーゲン・ヘパリン変性コラーゲン混合溶液の調製

実施例1で調製したコラーゲン・ヘパリン溶液を無菌条件下で遠心操作による濃縮を行い、濃度を4(w/v)%に調製した。一方、0.3~0.4(w/v)%のアテロコラーゲン溶液を凍結乾燥し、再び無菌の蒸留水に6.6(w/v)%となるように再溶解し、これを60℃の恒温槽内に30分間放置して熱変性を生ぜしめ変性アテロコラーゲン溶液とした。

【0061】この変性コラーゲン溶液を37℃の温度条件下で0.45μmの直径を持つフィルターを通して濾過滅菌した後、上記の4(w/v)%コラーゲン・ヘパリン溶液に対し、式「変性コラーゲン(w/v)%/

(コラーゲン・ヘパリン+変性コラーゲン)(w/v)%=0.1」を満たすように混合し調製した。

【0062】(実施例3)

コラーゲン・ヘパリン・アスコルビン酸混合溶液の調製

実施例1で調製したコラーゲン・ヘパリン溶液を無菌条件下で遠心操作による濃縮を行い、濃度4(w/v)%に調製した。さらに、L-アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム(和光純薬株式会社製)を最終濃度が1mMとなるように添加し、十分攪拌して、アスコルビン酸含有の線維化アテロコラーゲン・ヘパリン混合溶液を調製した。

【0063】(実施例4)

アスコルビン酸含有のコラーゲン・ヘパリン変性コラーゲン混合溶液の調製

実施例2で得られたコラーゲン・ヘパリン変性コラーゲン混合溶液にL-アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウムを最終濃度が1mMになるように添加し、十分攪拌し、アスコルビン酸含有のコラーゲン・ヘパリン変性コラーゲン混合溶液を調製した。

【0064】(実施例5)

人工皮膚の作成①

実施例3で調製した4(w/v)%コラーゲン・ヘパリン・アスコルビン酸の混合溶液をステンレスパットに注入し、-30℃以下に急速冷却して十分凍結させた後、-40℃、0.1トール未満の真空下で凍結乾燥させることにより、コラーゲン・ヘパリン・アスコルビン酸のマトリックスが得られた。

【0065】次にテフロン平板上に67%のメディカルグレートサイラスティックスシリコーン(ダウコーニング株式会社製、接着シリコーンタイプA)のヘキサン溶液を精密被覆用具(アブリケーター)を用いて塗布して製膜し、塗布した直後に、その湿潤層上に上記のコラーゲン・ヘパリン・アスコルビン酸マトリックスを載せ、室温で10分間放置した後、60℃で少なくとも1時間、オープン硬化させた。さらに、0.05トール未満の真空下で110℃、4時間加熱処理することにより人工皮膚①を得た。

【0066】(実施例6)

人工皮膚の作成②

実施例4で調製した4(w/v)%コラーゲン・ヘパリン変性コラーゲンの混合溶液に、L-アスコルビン酸エステルを加え十分攪拌した後、ステンレスパットに注入し、-30℃以下に急速冷却して十分凍結させた後、-40℃、0.1トール未満の真空下で凍結乾燥させることにより、アスコルビン酸を含有したコラーゲン・ヘパリン変性コラーゲンのマトリックスが得られた。

【0067】次にテフロン平板上に67%のメディカルグレートサイラスティックスシリコーン(ダウコーニング株式会社製、接着シリコーンタイプA)のヘキサン溶液を精密被覆用具(アブリケーター)を用いて塗布して

製膜し、塗布した直後に、その湿潤層上に上記のコラーゲン・ヘパリン-アスコルビン酸マトリックスを載せ、室温で10分間放置した後、60℃で少なくとも1時間、オープン硬化させた。さらに、0.05トール未満の真空下で110℃、4時間加熱処理することにより人工皮膚②を得た。

#### 【0068】(実施例7)

##### 人工皮膚のラット皮膚欠損創への移植試験

上記実施例5及び実施例6で得られたマトリックスをラットの背中皮膚に移植して試験した。

【0069】200~400gのwistar-KYラットをネンブタール麻酔下で除毛し、イソジン消毒したラット背部に皮下筋膜を創面とする20×20mmの全創皮膚欠損創を作製し、止血、乾燥した後、生塩を含ませた検体をそれぞれ貼付した。シリコン膜辺縁を縫合糸で16ヶ所結紮固定した。その上に、ソルフレン（登録商標、テルモ株式会社製）・貼付剤を4枚重ね、更にエラスチンコン等の伸縮性絆創膏で胴巻きにし圧迫固定した。

【0070】移植2週間後に、上層部のシリコンをはがし、コラーゲン・ヘパリン-アスコルビン酸層（人工皮膚①）上に自家の分層植皮片を移植して更に4週間観察した。

【0071】また移植1週間後に、上層部のシリコンをはがし、アスコルビン酸を含有したコラーゲン・ヘパリン-変性コラーゲン酸層（人工皮膚②）上に自家の分層植皮片を移植して更に4週間観察した。

【0072】その結果、ほとんど収縮せず、植皮した分層植皮片が生着していることが肉眼で確認できた。病理組織学的にも、人工皮膚を使用して再生された真皮様組織と生着した分層植皮片はよく密着しており、分層植皮片の下には、再生された新しいコラーゲン線維が確認できた。

【0073】(実施例8) 上記各実施例と同様な方法でキチン（ポリ-N-アセチルグルコサミン）（フナコシ

社製）を含有した人工皮膚を作成し、ラット皮膚欠損創への移植試験を行った結果、上記実施例1~6の人工皮膚と同様な結果が得られた。

#### 【0074】

【発明の効果】本発明は細胞侵入性によって形成されたコラーゲン・ヘパリン-変性コラーゲンマトリックスにコラーゲン産生を促進する物質を含有した創傷接触層と水蒸気透過層とが積層されてなる人工皮膚であり、創傷、熱傷、じょく瘡等により皮膚が損傷を受けた際に、損傷面に適応され、創面を柔らかく保護し、痛みを和らげ、細菌の感染を防止する。

【0075】本発明は細胞侵入性によって形成されたコラーゲン・ヘパリンマトリックスにコラーゲン産生を促進する物質を含有した創傷接触層と水蒸気透過層とが積層されてなる人工皮膚であり、創傷、熱傷、じょく瘡等により皮膚が損傷を受けた際に、損傷面に適応され、創面を柔らかく保護し、痛みを和らげ、細菌の感染を防止する。

【0076】さらに本発明の人工皮膚は、創傷接触面が細胞侵入性を有するので、創面の適応された際に線維芽細胞が早期に創傷接触層に侵入し、真皮様の結合組織を構築するので創傷の治癒が促進される。

【0077】さらに、移植して一定の期間保持した後、上層の水蒸気透過調製層を剥がして、自家の分層植皮を移植しても生着することができる。

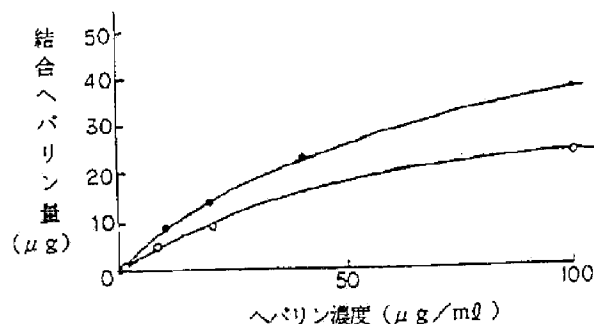
#### 【図面の簡単な説明】

図1・・・ヘパリンがコラーゲンの線維形成に及ぼす影響を、濁度を指標として観察した結果を図示したもの。

図2・・・調整時の全ヘパリン濃度と500μgのコラーゲンに結合しているヘパリン量の関係を図示したもの。

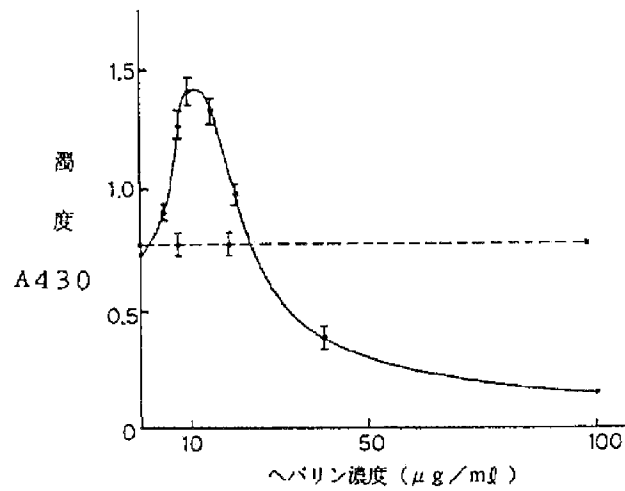
図3・・・線維状のコラーゲン・ヘパリン複合体を凍結乾燥した形成体を真空下0.05トール未満で110℃、4時間加熱処理し、この形成体からのヘパリンの徐放性を図示したもの。

【図2】



図中の●印は、線維形成前にヘパリンを加えた場合を示す。  
図中の○印は、線維形成後にヘパリンを加えた場合を示す。

【図1】



図中の実線 ( — ) は、線維形成前にヘパリンを加えた場合の濁度を示す。  
 図中の破線 ( - - - ) は、線維形成後にヘパリンを加えた場合の濁度を示す。

【図3】

